Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg
(Direktor: Prof. Dr. med. M. Baur †)

Der Einfluß des Harnstoffs auf die Durchlässigkeit von Gelatine und Cellophan für Farbstoffe

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Johann Heinrich Calame

Arzt aus Roßla/Harz

Marburg im Mai 1937

Druck von Thiele & Schwarz, Kassel-Wilhelmshöhe

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am 28. Mai 1937

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Referent: Dr. Gremels

Meinen lieben Eltern

Der Einfluß des Harnstoffs auf die Durchlässigkeit von Gelatine und Cellophan für Farbstoffe

Einleitung und Fragestellung

Von M. Baur[1]) ist in seinem Referat „Zur Pharmakologie des Harnstoffs" auf die permeabilitätssteigernde Wirkung des Harnstoffs hingewiesen worden. Seine Versuche wurden sowohl am Ganztier, wie an mehreren isolierten Organen vorgenommen. Am Ganztier wurden injizierte Farbstoffe unter Harnstoffzusatz rascher und vollkommener ausgeschieden. Am Mond'schen Froschdarmdurchströmungspräparat war die Resorption von Farbstoffen unter Zusatz von Harnstoff beschleunigt und verstärkt. Von Frommhold[2]) wurde auch für die durchströmte isolierte Froschniere der permeabilitätssteigernde Einfluß des Harnstoffs für Farbstoffe nachgewiesen. Untersuchungen von Reich[3]) am arbeitenden Froschgastrocnemius zeigten, daß Harnstoff auch am Muskelgewebe Permeabilitätsänderungen bewirkt im Sinne einer schnelleren und ausgiebigeren Wegdiffusion der bei der Muskelarbeit gebildeten Säureprodukte. Es liegt nun die Vermutung nahe, anzunehmen, daß durch Harnstoff die Farbstoffe in ihrem physikalisch-chemischen Charakter so verändert werden, daß sie in Gegenwart von Harnstoff durch die verschiedensten Gewebsarten leichter permeieren. Von Fatheuer[4]) wurde aber schon darauf hingewiesen, daß die in vielen Versuchen nachgewiesene permeabilitätssteigernde Wirkung des Harnstoffs weder mit der Molekulargröße, noch mit der elektrischen Ladung, noch mit der Lipoidlöslichkeit der in den Versuchen angewendeten Farbstoffe in Zusammenhang gebracht werden kann. Da also weder der physikalisch-chemische Charakter, noch die Molekulargröße der Farbstoffe von maßgeblichem Einfluß auf die erhöhte Durchlässigkeit durch tierische Gewebe in Gegenwart von Harnstoff zu sein scheint, läßt sich die Harnstoffwirkung nur als eine direkte Beeinflussung der Permeabilität des tierischen Gewebes selbst erklären. Um diese Tatsache eingehender zu beweisen, wurden von uns eine größere Anzahl Farbstofflösungen an zwei in ihrem Chemismus ganz verschiedenen Membranen, nämlich Gelatine- und Cellophanmembranen auf ihre Durchlässigkeit ohne

und in Gegenwart von Harnstoff untersucht. Cellophan ist eine glasklare Haut aus reiner Cellulose, biegsam, schmiegsam und bruchfest, ohne Fasern und Poren. Die Gelatinemembran wurde deshalb gewählt, weil sie als Eiweißmembran mit der Membran der tierischen Zelle oder besser der sog. Plasmagrenzschicht gewisse Ähnlichkeit hat, denn das Vorhandensein von protoplasmatischen Elementen in der Plasmagrenzschicht kann als sicher angesehen werden. Die Plasmagrenzschicht können wir uns im einfachsten Falle vorstellen als kolloidale Emulsion aus Lipoiden und Eiweißkörpern als disperse Phase, Wasser und gelöste Stoffe als Dispersionsmittel. Die kolloidalen festen Stoffe befinden sich dabei in einem Zustand der Quellung, der abhängig ist von der Natur des Dispersionsmittels. Die Gegenwart von Stoffen im Dispersionsmittel, die den Quellungszustand der Plasmakolloide verändern, ruft, wie durch zahlreiche Versuche erwiesen ist, damit gleichzeitig eine Änderung der Permeabilität der Grenzschicht hervor. Während es sich bei der Gelatinemembran um einen aus zahlreichen Aminosäuren aufgebauten Eiweißkörper handelt, ist die Cellulose, die bekanntlich den Hauptteil der pflanzlichen Gerüstsubstanz bildet, ein polymeres Kohlehydrat von der Formel $(C_6H_{10}O_5)_n$. Cellulose besitzt, im Gegensatz zu der starken Affinität der Eiweißkörper zu ihrem Lösungsmittel, eine sehr große Widerstandsfähigkeit gegen Lösungsmittel. Sie ist praktisch in Wasser unlöslich und nur begrenzt quellbar. Dabei erfolgt, wie I. R. Katz[5]) gezeigt hat, die Wasseraufnahme, wenn Cellulose quillt, im Gegensatz zur Quellung der Eiweißkörper nicht intermolekular, sondern intermizellar. Daß die Verschiedenheit der chemischen Natur beider Membranen für die durch Harnstoff hervorgerufene Permeabilitätsänderung von großer Bedeutung ist, wird bei der Besprechung der Versuchsergebnisse eingehender erläutert werden.

Methodik

Benutzt wurden zu diesen Versuchen an beiden Enden offene Glaszylinder. Die Länge der Zylinder betrug 10 cm, der Durchmesser 2,5 cm. Auf die untere Öffnung des Zylinders wurde die zu untersuchende Membran gespannt, die mittels eines Glasringes von demselben Durchmesser auf das untere abgeschliffene Ende des Zylinders fest aufgepreßt werden konnte. In diesen so an einem Ende abgeschlossenen Zylinder wurden bei den Versuchen 14 ccm Aqu. dest. bzw. wässrige Harnstofflösung gefüllt. Die derart vorbereiteten Zylinder wurden in Bechergläser gestellt, in denen 50 ccm einer der aufgeführten Farbstofflösungen waren. Um Unterschiede des hydrostatischen Druckes zu vermeiden, wurde für die

Außenflüssigkeit 50 ccm, für die Innenflüssigkeit 14 ccm gewählt; bei diesem Mengenverhältnis stand der Flüssigkeitsspiegel außen und innen gleich hoch. Es wurden gleichzeitig nebeneinander angesetzt ein Versuch ohne Harnstoff und ein Versuch, bei dem sowohl die Außenflüssigkeit wie die Innenflüssigkeit Harnstoff enthielt. Um ein Mißverständnis, das bei der Durchsicht der Tabellen und Beurteilung der Versuchsergebnisse entstehen könnte, schon hier auszuschließen, muß darauf hingewiesen werden, daß praktisch gleiche Versuchsbedingungen geschaffen werden konnten nur für jeweils *eine* Versuchsanordnung. Eine Versuchsanordnung bestand, wie erwähnt, nur aus einem Versuch ohne Harnstoff und einem Versuch, bei dem der Außenflüssigkeit, die den Farbstoff enthielt, als auch der Innenflüssigkeit Harnstoff in gleicher Konzentration zugesetzt wurde. Praktisch gleiche Versuchsbedingungen konnten deshalb nur für jeweils eine Versuchsanordnung geschaffen werden, weil bei der Durchführung der Versuche so vorgegangen wurde, daß aus je einem Gelatineblatt — es fanden die im Handel üblichen Gelatineblätter Verwendung — zwei auf die Zylinder passende kleine Membranen unmittelbar nebeneinander herausgeschnitten wurden, so daß diese beiden Membranen praktisch gleichartig waren. Bereits zu einem nächsten Versuch, bei dem beispielsweise die Durchtrittsfähigkeit eines gleichen Farbstoffes in Gegenwart einer anderen Harnstoffkonzentration untersucht wurde, wurde ein anderes Gelatineblatt benutzt, aus dem wiederum für Kontroll- und Harnstoffversuch zwei kleine Membranen nebeneinander herausgeschnitten wurden. Wenn z. B. Prune pure trotz gleicher Konzentration und gleicher Versuchsdauer in Versuch Nr. 26 bedeutend besser durch die Membran diffundiert ist als in Versuch Nr. 27, so ist als Ursache dieser Unterschiede die Verschiedenartigkeit der Membran anzusehen.

Da die Diffusionsgeschwindigkeit bei den einzelnen Farbstoffen verschieden war, konnte eine bestimmte Zeit für die Dauer der Versuche nicht festgesetzt werden. Die Diffusionsversuche durch Cellophanmembranen wurden bei Zimmertemperatur angestellt (17—20° C). Um wegen des niedrigen Schmelzpunktes der Gelatine den Membrancharakter zu wahren, mußten die Versuche im Kühlschrank bei 6° C durchgeführt werden. Nach Beendigung eines Versuches wurden die Lösungen aus den Zylindern in trockene Reagenzgläser gefüllt und dann ihre Farbtiefe im Kolorimeter nach Hellige mit der Ausgangsflüssigkeit verglichen. Aus den am Kolorimeter abgelesenen Werten wurde dann die absolut diffundierte Farbstoffmenge wie folgt errechnet. Da in den Versuchen die Menge der Farbstofflösungen der Außenflüssigkeit 50 ccm betrug und stets Konzentrationen von 0,1 bzw. 0,01 % angewendet wurden, so enthielt die Außenflüssigkeit 50 bzw. 5 mg des jeweils untersuchten Farbstoffes. War nach Beendigung

des Versuches eine bestimmte Menge Farbstoff durch die Membran hindurch in die Innenflüssigkeit diffundiert, so konnte die diffundierte Farbstoffmenge folgendermaßen errechnet werden. Die Innenflüssigkeit wurde im Kolorimeter nach Hellige mit einer Lösung des gleichen Farbstoffes bekannter Konzentration verglichen. Mittels dieses kolorimetrischen Vergleichsverfahrens konnte der Prozentgehalt der Innenflüssigkeit mit Leichtigkeit bestimmt werden. Da die Menge der Innenflüssigkeit 14 ccm betrug, erhielt man die absolut diffundierte Farbstoffmenge in mg durch Multiplikation mit 14 und 10. Die nun auf diese Weise errechnete absolute Farbstoffmenge wird von der in der Außenflüssigkeit zu Beginn des Versuches enthaltenen Farbstoffmenge (50 bzw. 5 mg) abgezogen. Der in den Tabellen angegebene Quotient stellt das Verhältnis des nach Beendigung des Versuches errechneten Farbstoffgehaltes der Innenflüssigkeit zu der nach Beendigung des Versuches in der Außenflüssigkeit noch vorhandenen Farbstoffmenge dar. Die während der Diffusionsversuche eventuell von der Membran absorbierte Farbstoffmenge blieb bei der Berechnung unberücksichtigt. Je kleiner, ganz allgemein gesagt, der Bruch ist, um so mehr Farbtoff ist diffundiert, je größer, um so weniger Farbstoff ist diffundiert.

Die auf ihre Durchtrittsfähigkeit an der Gelatine- und Cellophanmembran untersuchten Farbstoffe waren hinsichtlich ihrer Molekulargröße und ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften keineswegs einheitlich. Wie aus Tabelle 1 zu ersehen ist, wurden Farbstoffe vom Molekulargewicht 287—696, saure und basische, lipoidlösliche und lipoidunlösliche Farbstoffe an beiden Membranen ohne und in Gegenwart von Harnstoff untersucht. (Siehe Tabelle I.)

Versuche über die Durchtrittsfähigkeit von sauren und basischen Farbstoffen an der Cellophanmembran und an der Gelatinemembran

Tabelle II zeigt die Diffusionsversuche an der Cellophanmembran mit sauren Farbstoffen. Die erste senkrechte Rubrik enthält Name und Konzentration der untersuchten Farbstoffe. Dann folgt in den weiteren Rubriken Angabe der Versuchsdauer, Harnstoffkonzentration, Temperatur, bei der die Versuche gemacht wurden, und Farbstoffkonzentration der kolorimetrischen Vergleichslösung. In der sechsten Rubrik steht der Quotient, der das Verhältnis der Farbstoffkonzentration der Innenflüssigkeit zur Außenflüssigkeit nach Beendigung des Versuches angibt. Tabelle III zeigt die Diffusionsversuche an Cellophanmembranen mit basischen Farbstoffen. Die Erklärung dieser Tabelle wie oben. Überall da, wo die Cellophanmembran in Anwendung kam, konnte bei Gegenwart von Harnstoff eine

Diffusionsverlangsamung bzw. Hemmung festgestellt werden. Innerhalb dieser allgemeinen Feststellung bestehen aber noch wesentliche Unterschiede. So hat sich gezeigt, daß die sauren Farbstoffe ganz allgemein bei der Cellophanmembran langsamer diffundieren als die basischen Farbstoffe, was eventuell mit dem größeren Molekulargewicht der sauren Farbstoffe in Zusammenhang gebracht werden kann. Eine genaue einwandfreie Gesetzmäßigkeit besteht jedoch nicht, da die Versuchsbedingungen wie Farbstoffkonzentration und Zeitdauer zu verschieden waren. Auf eine andere Tatsache aber muß bei den Versuchen noch hingewiesen werden, nämlich, daß die Beeinflussung der Durchlässigkeit der Membran abhängig ist von der Harnstoffkonzentration. An sechs Farbstoffen wurden zwei Harnstoffkonzentrationen verwendet. Viermal geht aus den Ergebnissen hervor, daß bei Versuchen mit 6 % Harnstoff die Durchtrittsgeschwindigkeit der Farbstoffe mehr gehemmt waren als bei Versuchen mit 3 %. Methylenblau zeigt keinen Unterschied, während bei Säurefuchsin der Versuch mit 3 % Harnstoff eine größere Hemmung zeigt. Versuche mit Bismarckbraun bildeten in jeder Hinsicht eine Ausnahme. Hier konnte trotz vieler Versuche kein Effekt beobachtet werden. Kongorot diffundierte ohne und in Gegenwart von Harnstoff nicht.

Tabelle IV zeigt die Diffusionsversuche an Gelatinemembranen mit sauren Farbstoffen, Tabelle V mit basischen Farbstoffen. Aus diesen beiden Tabellen ist einwandfrei zu ersehen, daß in Gegenwart von Harnstoff die von der Außenflüssigkeit in die Innenflüssigkeit diffundierte Farbstoffmenge überall größer war.

Ein Unterschied besteht auch wieder in den Ergebnissen bei Anwendung saurer und basischer Farbstoffe. Während aus Tabelle II und III zu ersehen war, daß mit einer gewissen Gesetzmäßigkeit die basischen Farbstoffe besser diffundierten, fällt hier das umgekehrte auf. Saure Farbstoffe treten im allgemeinen schneller durch die Membran als basische. Außerdem kann hierbei klar der Beweis erbracht werden, daß die Permeabilitätsänderung abhängt von der Harnstoffkonzentration. Von acht Farbstoffen wurden siebenmal Versuche mit 6 und 3 % Harnstoff gemacht. Immer wieder trat zwischen beiden Versuchen ein deutlicher Unterschied hervor, nämlich, daß die Durchlässigkeit der Membran bei Versuchen mit 6 % Harnstoff bedeutend größer war. Während bei Versuchen mit 3 % Harnstoff noch eine erhöhte Durchlässigkeit der Membran feststellbar ist, zeigten Versuche mit ganz niedrigen Harnstoffkonzentrationen keine Unterschiede zwischen der Durchtrittsfähigkeit der Farbstoffe ohne und in Gegenwart von Harnstoff. Auf eine Wiedergabe der Versuche mit geringeren Harnstoffkonzentrationen als 3 % wird verzichtet, weil hierbei Unterschiede nicht beobachtet werden konnten.

Schlußfolgerung

Die angeführten Versuche haben bewiesen, daß die durch Harnstoff verursachte Änderung der Permeabilität für Farbstoffe einzig und allein abhängig ist von der chemischen Natur der Membranen. Gelatinemembranen erfahren in Gegenwart von Harnstoff stets eine Erhöhung ihrer Durchlässigkeit für Farbstoffe verschiedensten physikalisch-chemischen Charakters. Die Tatsache, daß in Gegenwart von Harnstoff die Permeabilität von Gelatinemembranen erhöht ist, stimmt mit den Beobachtungen von Bechhold und Ziegler[6]) überein, daß Harnstoffzusätze die Durchlässigkeit von Gelatinegallerte sowohl für Elektrolyte wie für Nichtelektrolyte begünstigt, daß Harnstoff außerdem die Gelatinierungstemperatur erniedrigt und die Gelatinierungsgeschwindigkeit der Gelatine stark verlangsamt. Zur Erklärung all dieser Beobachtungen können wir die Befunde von Heim[7]) heranziehen, daß Harnstoff die Hydratation von Gelatine erhöht, und zwar treten nach seiner Ansicht die stark hydratisierten Harnstoffmoleküle infolge ihres hohen Dipolmoments in elektrostatische Wechselwirkung mit der Peptidgruppe der Eiweißkörper, als deren Folge eine Zunahme der Hydratation der Peptidgruppen und somit des ganzen Eiweißmoleküls angesehen werden kann. Die Möglichkeit einer starken Hydratation des Harnstoffmoleküls ist nach seiner Ansicht gegeben durch das Vorhandensein mehrerer sog. hydrophiler Gruppen (—NH_2, —O—) im Molekül. Eine Anlagerung der Harnstoffmoleküle speziell an die Peptidgruppen des Eiweißmoleküls wird wegen des hohen Dipolmoments der Peptidgruppen als sehr wahrscheinlich angesehen. Harnstoff führt deshalb zu einer vermehrten Durchlässigkeit der Gelatinemembran für Farbstoffe, weil er die Hydratation der Gelatine begünstigt und dadurch zu einer Auflockerung der Gelatinemembran führt.

Dagegen wurde, wie aus Tabelle II und III hervorgeht, die Diffusion sowohl basischer als auch saurer Farbstoffe durch Cellulosemembranen bei Harnstoffzusatz sogar etwas gehemmt. Da von Heim als Ursache der Permeabilitätssteigerung durch Harnstoff die durch Anlagerung von hydratisierten Harnstoffmolekülen an die Peptidgruppen des Eiweißmoleküls hervorgerufene erhöhte Hydratation des Eiweiß angesehen wird, so kommt eine Erhöhung der Hydratation der Cellulose infolge Fehlens von Peptidgruppen im Molekül nicht in Frage. Die Diffusionshemmung durch Harnstoff ließe sich so erklären, daß in Gegenwart des nicht oberflächenaktiven Harnstoffmoleküls eine negative Adsorption an die Cellulosemembran stattfindet, so daß die Diffusion nicht allein des Harnstoffs, sondern auch der Farbstoffmoleküle gehemmt wird.

Zusammenfassung

Im Anschluß an die Versuche von M. Baur wurde von uns der Einfluß des Harnstoffs auf die Durchlässigkeit der Gelatine- und der Cellophanmembran für Farbstoffe untersucht.

Es hat sich einwandfrei erwiesen, daß die Wirkung des Harnstoffs nicht an den Farbstoffen angreift, sondern daß der Harnstoff eine Änderung der Permeabilität der Membranen hervorruft. Bei der Gelatinemembran wird die Durchlässigkeit für saure und basische Farbstoffe in Gegenwart von Harnstoff erhöht, während der Harnstoff die Durchlässigkeit von Cellulosemembranen für die genannten Farbstoffe sogar etwas hemmt. Als Ursache der Permeabilitätssteigerung der Gelatinemembran in Gegenwart von Harnstoff wird die durch Harnstoff hervorgerufene erhöhte Hydratation der Gelatinemembran angesehen. Negative Adsorption des Harnstoffs an die Cellulosemembran wird als Ursache für die Diffusionshemmung angesprochen, die Farbstoffe in Gegenwart von Harnstoff erfahren.

Tabelle I

Farbstoff	Molekulargewicht	Ladung	Lipoidlöslichkeit
Naphtholgelb	412	s	
Eosin gelblich	692	s	lösl.
Cyanol	570	s	unlösl.
Säurefuchsin	604	s	unlösl.
Kongorot	696	s	unlösl.
Methylenblau	373	b	lösl.
Neutralrot	287	b	lösl.
Prune pure	343	b	lösl.
Bismarckbraun	350	b	lösl.

Zeichenerklärung: s = sauer, b = basisch.

Die Lipoidlöslichkeit wurde untersucht am Nirenstein'schen Oel-Oelsäure-Diamylgemisch.

Tabelle II

Versuche an der Cellophanmembran mit sauren Farbstoffen

Farbstofflösung und Konzentration	Versuchsdauer Stunden	Harnstoffkonzentration	Temp.	Vergleichslös.	Quotient
1. Naphtholgelb 0,1%	3	ohne Harnstoff	17-20°	Naphtholgelb 0,01%	1 : 233
1a. Naphtholgelb 0,1%	3	6 %	17-20°	Naphtholgelb 0,01%	1 : 254
2. Eosin gelblich 0,1%	16	ohne Harnstoff	17-20°	Eosin gelblich 0,01%	1 : 117
2a. Eosin gelblich 0,1%	16	6 %	17-20°	Eosin gelblich 0,01%	1 : 139
3. Cyanol 0,01%	16	ohne Harnstoff	17-20°	Cyanol 0,001%	1 : 84,2
3a. Cyanol 0,01%	16	3 %	17-20°	Cyanol 0,001%	1 : 93,0
4. Cyanol 0,01%	16	ohne Harnstoff	17-20°	Cyanol 0,001%	1 : 72,0
4a. Cyanol 0,01%	16	6 %	17-20°	Cyanol 0,001%	1 : 99,0
5. Säurefuchsin 0,01%	72	ohne Harnstoff	17-20°	Säurefuchsin 0,001%	1 : 70,0
5a. Säurefuchsin 0,01%	72	3 %	17-20°	Säurefuchsin 0,001%	1 : 174,0
6. Säurefuchsin 0,01%	72	ohne Harnstoff	17-20°	Säurefuchsin 0,001%	1 : 75,5
6a. Säurefuchsin 0,01%	72	6 %	17-20°	Säurefuchsin 0,001%	1 : 169,0
Kongorot 0,05%	42	ohne Harnstoff	17-20°	Kein Farbdurchtritt durch die Membran	
Kongorot 0,05%	42	6 %	17-20°		

Tabelle III

Versuche an der Cellophanmembran mit basischen Farbstoffen

Farbstofflösung und Konzentration	Versuchsdauer Stunden	Harnstoffkonzentration	Temp.	Konzentration der Vergleichslös.	Quotient
7. Methylenblau 0,01%	40	ohne Harnstoff	17-20°	Methylenblau 0,01%	1:8,5
7a. Methylenblau 0,01%	40	3%	17-20°	Methylenblau 0,01%	1:19,4
8. Methylenblau 0,01%	40	ohne Harnstoff	17-20°	Methylenblau 0,01%	1:7,27
8a. Methylenblau 0,01%	40	6%	17-20°	Methylenblau 0,01%	1:17,6
9. Neutralrot 0,01%	40	ohne Harnstoff	17-20°	Neutralrot 0,01%	1:8,0
9a. Neutralrot 0,01%	40	3%	17-20°	Neutralrot 0,01%	1:13,25
10. Neutralrot 0,01%	40	ohne Harnstoff	17-20°	Neutralrot 0,01%	1:19,4
10a. Neutralrot 0,01%	40	6%	17-20°	Neutralrot 0,01%	1:32,2
11. Prune pure 0,01%	40	ohne Harnstoff	17-20°	Prune pure 0,001%	1:38,0
11a. Prune pure 0,01%	40	3%	17-20°	Prune pure 0,001%	1:55,0
12. Prune pure 0,01%	40	ohne Harnstoff	17-20°	Prune pure 0,001%	1:99,6
12a. Prune pure 0,01%	40	6%	17-20°	Prune pure 0,001%	1:128,0
13. Bismarckbraun 0,01%	70	ohne Harnstoff	17-20°	Bismarckbraun 0,01%	1:14,9
13a. Bismarckbraun 0,01%	70	3%	17-20°	Bismarckbraun 0,01%	1:14,7
14. Bismarckbraun 0,01%	70	ohne Harnstoff	17-20°	Bismarckbraun 0,01%	1:17,6
14a. Bismarckbraun 0,01%	70	6%	17-20°	Bismarckbraun 0,01%	1:17,8

Tabelle IV

Versuche an der Gelatinemembran mit sauren Farbstoffen

Farbstofflösung und Konzentration	Versuchsdauer Stunden	Harnstoffkonzentration	Temp.	Konzentration der Vergleichslös.	Quotient
15. Naphtholgelb 0,1%	40	ohne Harnstoff	6°	Naphtholgelb 0,1%	1:17,1
15a. Naphtholgelb 0,1%	40	6 %	6°	Naphtholgelb 0,1%	1:16,2
16. Eosin gelblich 0,1%	46	ohne Harnstoff	6°	Eosin gelblich 0,1%	1:24,5
16a. Eosin gelblich 0,1%	46	3 %	6°	Eosin gelblich 0,1%	1:19,2
17. Eosin gelblich 0,1%	46	ohne Harnstoff	6°	Eosin gelblich 0,1%	1:29,2
17a. Eosin gelblich 0,1%	46	6 %	6°	Eosin gelblich 0,1%	1:16,25
18. Cyanol 0,01%	24	ohne Harnstoff	6°	Cyanol 0,01%	1:36,6
18a. Cyanol 0,01%	24	3 %	6°	Cyanol 0,01%	1:30,0
19. Cyanol 0,01%	24	ohne Harnstoff	6°	Cyanol 0,01%	1:38,7
19a. Cyanol 0,01%	24	6 %	6°	Cyanol 0,01%	1:21,1
20. Säurefuchsin 0,01%	48	ohne Harnstoff	6°	Säurefuchsin 0,01%	1:61,2
20a. Säurefuchsin 0,01%	48	3 %	6°	Säurefuchsin 0,01%	1:56,5
21. Säurefuchsin 0,01%	48	ohne Harnstoff	6°	Säurefuchsin 0,01%	1:32,2
21a. Säurefuchsin 0,01%	48	6 %	6°	Säurefuchsin 0,01%	1:23,6

Tabelle V

Versuche an der Gelatinemembran mit basischen Farbstoffen

Farbstofflösung und Konzentration	Versuchsdauer Stunden	Harnstoffkonzentration	Temp.	Konzentration der Vergleichslös.	Quotient
22. Methylenblau 0,01 %	40	ohne Harnstoff	6°	Methylenblau 0,01 %	1 : 78,5
22a. Methylenblau 0,01 %	40	3 %	6°	Methylenblau 0,01 %	1 : 38,6
23. Methylenblau 0,01 %	40	ohne Harnstoff	6°	Methylenblau 0,01 %	1 : 78,5
23a. Methylenblau 0,01 %	40	6 %	6°	Methylenblau 0,01 %	1 : 16,3
24. Neutralrot 0,01 %	64	ohne Harnstoff	6°	Neutralrot 0,01 %	1 : 38,6
24a. Neutralrot 0,01 %	64	3 %	6°	Neutralrot 0,01 %	1 : 25,0
25. Neutralrot 0,01 %	64	ohne Harnstoff	6°	Neutralrot 0,01 %	1 : 38,6
25a. Neutralrot 0,01 %	64	6 %	6°	Neutralrot 0,01 %	1 : 16,2
26. Prune pure 0,01 %	48	ohne Harnstoff	6°	Prune pure 0,005 %	1 : 11,36
26a. Prune pure 0,01 %	48	3 %	6°	Prune pure 0,005 %	1 : 7,08
27. Prune pure 0,01 %	48	ohne Harnstoff	6°	Prune pure 0,005 %	1 : 75,25
27a. Prune pure 0,01 %	48	6 %	6°	Prune pure 0,01 %	1 : 10,6
28. Bismarckbraun 0,01 %	100	ohne Harnstoff	6°	Bismarckbraun 0,001 %	1 : 156,0
28a. Bismarckbraun 0,01 %	100	3 %	6°	Bismarckbraun 0,001 %	1 : 64,4
29. Bismarckbraun 0,01 %	100	ohne Harnstoff	6°	Bismarckbraun 0,001 %	1 : 159,0
29a. Bismarckbraun 0,01 %	100	6 %	6°	Bismarckbraun 0,001 %	1 : 35,0

Schrifttum

1. Baur, Verhandlungen der deutschen Pharmakologischen Gesellschaft 1932.
2. Frommhold (unter Baur), Inaugural-Dissertation, Marburg 1934.
3. Reich (unter Baur), Inaugural-Dissertation, Marburg 1935.
4. Fatheuer (unter Baur), Inaugural-Dissertation, Marburg 1933.
5. Katz, Ergebnisse der exakten Naturwissenschaften, Berlin 1924.
6. Bechhold und Ziegler, Zeitschrift für physikalische Chemie 56, 1906.
7. Heim, der Einfluß des Harnstoffs auf die Hydratation von Eiweiß, Biochemische Zeitschrift 1937.

Lebenslauf

Am 6. Oktober 1909 wurde ich, Johann Heinrich Calame, arischer Abstammung und evangelischen Bekenntnisses, als Sohn des praktischen Arztes Dr. Franz Adalbert Ernst Calame und seiner Ehefrau Emma Emilie Calame, geb. Volland, in Roßla am Harz geboren. Im Jahre 1916 kam ich in die Vorschule einer Privatanstalt in Roßla, wo ich bis zum Jahre 1922 blieb. Mit der Versetzung nach Untertertia wurde ich in der Klosterschule in Ilfeld am Harz aufgenommen. Im Jahre 1926 wechselte ich die Schule und besuchte nun das Gymnasium in Sangerhausen, wo ich 1930 die Reifeprüfung ablegte. Am 12. Mai 1930 wurde ich als Student der Medizin an der Universität Leipzig eingeschrieben. Dort studierte ich vier Semester. Im Sommer 1932 war ich in Kiel immatrikuliert. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich am 1. März 1933 in Leipzig. Vom Sommersemester 1934 ab habe ich in Marburg studiert, wo ich im Wintersemester 1935/36 die ärztliche Prüfung ablegte. Als Medizinal-Praktikant war ich sechs Monate am Pharmakologischen Institut der Universität Marburg und sechs Monate am Kreiskrankenhaus in Mohrungen in Ostpreußen tätig.

Meine akademischen Lehrer waren:

In Leipzig: Debye, Fahrenholz, Gildemeister, Held, Helferich, Hein, Meisenheimer, Ruhland, Thomas, Voß; klinisch: Groß, Hochrein, Hueck, Kuntzen, Küstner, Morawitz, Payr, Rille, Sellheim, Schröder.

In Kiel: Höber, Netter.

In Marburg: Baur, Boeminghaus, Freudenberg, Grüter, Hildebrand, Kehrer, Klapp, Klewitz, Loebell, Nauck, Neumann, Pfannenstiel, Schrader, Schwenkenbecher, Uffenorde, Versé.